

ヒトにおける異種反応性自然抗体（抗 Gal 抗体） 産生 B 細胞の解析

著者	後藤 昌史
号	1688
発行年	2000
URL	http://hdl.handle.net/10097/22027

氏 名（本籍）	後 ^ご 藤 ^{とう} 昌 ^{まさ} 史 ^{ふみ}
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 6 8 8 号
学位授与年月日	平 成 12 年 3 月 23 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）病態科学系専攻
学 位 論 文 題 目	ヒトにおける異種反応性自然抗体（抗 α Gal 抗体） 産生 B 細胞の解析

（主 査）

論文審査委員	教授 里 見 進	教授 藤 村 重 文
	教授 菅 村 和 夫	

論 文 内 容 要 旨

ヒトからブタへの異種移植においては、異種反応性自然抗体（以下 XNA）及び補体によって引き起こされる超急性拒絶反応が大きな障壁となっている。それにもかかわらず、XNA を産生するヒト B 細胞そのものの分布や特徴について詳細は未だ明らかではない。この研究では、我々が独自に考案した、ブタサイログロブリンと磁気性ビーズを使用する方法を用いて、ヒト XNA を産生する B 細胞を分離し、その分布や特徴を調べることを目的に、臓器別局在、CD5 発現率、表面イムノグロブリンのアイソタイプ、CD45 発現率につき検討を行った。まず、ブタサイログロブリンビーズにより選択分離された細胞が、ほぼ全て B 細胞であることを確認した。次に、それらが α Gal 抗原に対して特異性を持っていることを証明し、さらに異種反応性自然抗体を作成することを、EB ウイルスを transform することによって確認した。その上で、異種反応性自然抗体産生 B 細胞の分布や特徴を調べることを目的にフローサイトメトリーを使用し、先に掲げた 4 項目につき検討を加え、以下の結論を得た。

1. ヒトにおける異種反応性自然抗体産生 B 細胞は、特に脾臓に多いという事はなく、むしろ末梢血中に有意に多く見られ、その存在割合は、全 B 細胞の約 0.5 から 2 % であった。
2. ヒトにおける異種反応性自然抗体産生 B 細胞中の CD5 陽性率は 40.04 % であり、同じ検体の全 B 細胞中の陽性率である 35.54 % と比べ、有意な差は認められなかった。したがって、とりたてて CD5 陽性のものが多いわけではないことが判明した。
3. 異種反応性自然抗体産生 B 細胞上の表面 IgG 強陽性率は、20.2 % であり、同じ検体の全 B 細胞中の強陽性率である 27.3 % と比べ、有意な差は認められなかった。表面 IgM に関しては、全 B 細胞中の強陽性率は 10.32 % にとどまったのに対し、異種反応性自然抗体産生 B 細胞においては、46.09 % であり、有意に高値を示した。表面 IgD に関しては、全 B 細胞中の強陽性率は 11.38 % であるのに対し、異種反応性自然抗体産生 B 細胞においては 67.29 % であり、これも有意に高値を示した。したがって、ヒトの異種反応性自然抗体産生 B 細胞には、表面イムノグロブリンとして、IgD、IgM を発現しているものが多いことが判明した。
4. CD45RA に関する検討結果であるが、異種反応性自然抗体産生 B 細胞においては、実に 94.37 % が陽性を示しており、全 B 細胞中の陽性率である 82.40 % に比べ有意に高値を示した。次に CD45RO に関する検討結果であるが、全 B 細胞中の陽性率が 24.24 % であったのに対し、異種反応性自然抗体産生 B 細胞においては 2.61 % であり、逆に有意に低値を示した。以上より、ヒトにおける異種反応性自然抗体産生 B 細胞の多くは、成熟 B 細胞ではあるが、ナイーブな状態にあるものが多いということが推測できた。

ブタからヒトへの異種移植を実現するためには、超急性拒絶反応の壁を破る必要があり、そのため現在世界中で実に様々な方面から研究されているわけだが、なかなか克服できないというのが実状である。特に根幹を成す XNA を産生するヒト B 細胞そのものの分布や特徴については、詳細は未だ全く明らかなではない。その理由はひとえにこの細胞の分離ができなかったことに由来している。そこで、今回我々はブタのサイログロブリンを付着した磁気性ビーズを使用して分離するという、非常に簡便かつ迅速な方法を独自に考案し、それにより分離した細胞の解析を行い、いくつかの結論を得ることができた。今後さらなる研究によりこれら B 細胞の特異的な性質を明らかにし、特異的抑制が可能となれば、異種反応性自然抗体産生そのものの特異的抑制が可能となり、それにより超急性拒絶反応が抑制され、ブタからヒトへの異種移植の実現へ向け大きな前進となることは間違いないと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、ブタからヒトへの discordant 異種移植を想定して、その際に生じる超急性拒絶反応における異種反応性自然抗体（以下 XNA）産生 B 細胞の分布や特徴を調べることを目的に行われた。

ヒトからブタへの異種移植においては、XNA 及び補体によって引き起こされる超急性拒絶反応が大きな障壁となっていることが、近年明らかとなってきた。それにもかかわらず、XNA を産生するヒト B 細胞そのものの分布や特徴について詳細は未だ明らかではない。したがって、これを明らかにすることは、XNA 産生そのものの特異的抑制へとつながり、ひいては、超急性拒絶反応の抑制によるブタからヒトへの異種移植の実現へ向け、大きな前進となり、非常に意義のあることである。

従来よりこれら B 細胞の研究を困難としてきた最大の理由は、XNA 産生 B 細胞の分離が困難であったことに由来している。そこで本研究においては、独自に考案した、ブタサイログロブリンを付着した磁気性ビーズを使用するという、非常に簡便かつ迅速な方法を用いて、これら B 細胞を分離しその解析を行った。ブタサイログロブリン付着ビーズにより選択分離された細胞が、 α Gal 抗原に対して特異性を持っていることをフローサイトメトリー、ELISA にて証明し、さらに XNA を産生することを EB ウイルスを transform することによって確認した。

その結果、ヒトにおける XNA 産生 B 細胞は、従来いわれているように脾臓に多いという事実はなく、むしろ末梢血中に有意に多く見られ、その存在割合は、全 B 細胞の約 0.5～2 %であることが明らかとなった。また、ヒトにおける XNA 産生 B 細胞中の CD5 陽性率は 40.04 % であり、同じ検体の全 B 細胞中の陽性率である 35.54 % と比べ、有意な差は認められず、CD5 陽性率が高くないことも明らかとなった。さらにフローサイトメトリーによる解析により、ヒトの XNA 産生 B 細胞には、表面イムノグロブリンとして、IgD、IgM を発現しているものが多いことが確認された。また、これら B 細胞の大半が CD45RA を発現しているのに対し、CD45RO を発現しているものはほとんど認めないこともあわせて確認された。これらの結果は、ヒトにおける XNA 産生 B 細胞の多くが、成熟 B 細胞ではあるが、ナイーブな状態にあるという事を示唆している。

以上、本研究はブタからヒトへの異種移植実現にとって大きな障害となっている、XNA を産生する B 細胞そのものの解析を行ったことに加えて、独自に考案した XNA 産生 B 細胞の分離方法を確立したことに独創性並びに意義を認める。本研究は、ブタからヒトへの異種移植という今まで閉ざされていた扉を開くものであり、本研究をさらに発展させることによりブタからヒトへの異種移植実現に近づく事が期待できる。よって、本研究は学位授与に値するものである。